

## Определение глицирризиновой кислоты в корнях солодки методом ВЭЖХ с субкритической экстракцией

**\*Л.В. Павлова<sup>1</sup>, И.А. Платонов<sup>1</sup>, В.А. Куркин<sup>2</sup>,  
Е.А. Новикова<sup>1</sup>, И.Н. Колесниченко<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, Российская Федерация, 443086, г. Самара, Московское шоссе, д. 34

<sup>2</sup>Самарский государственный медицинский университет, Российская Федерация, 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89

\*Адрес для переписки: Павлова Лариса Викторовна, E-mail: lora-pavlova@mail.ru

Поступила в редакцию 22 марта 2018 г., после исправлений – 14 июля 2018 г.

Глицирризиновая кислота относится к тритерпеновым сапонинам, является целевым компонентом при получении экстрактов из корня солодки (*Glycyrrhiza glabra*). В данной работе разработана методика определения глицирризиновой кислоты (ГК) в корнях солодки голой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с предварительной экстракцией водой в субкритических условиях. Для оптимизации условий пробоподготовки проведена оценка эффективности извлечения ГК водой и растворами аммиака при температурах 120, 150 и 170 °С и давлении 5 МПа в динамических условиях в сравнении с экстракцией на водяной бане водой растворами аммиака, ацетоном, 3 % раствором азотной кислоты в ацетоне. Показано, что максимальное извлечение ГК при всех изученных режимах экстракции происходит при экстракции водой при  $t = 150$  °С и скорости потока 1.7 см<sup>3</sup>/мин, сопоставимые результаты дает экстракция 3 % раствором аммиака в тех же условиях. Извлечение ГК в субкритических условиях в 2-3 раза превосходит извлечение ГК на водяной бане. Для проведения количественного анализа предложено использование метода ВЭЖХ с градиентным элюированием. Показано, что применение разработанной методики позволяет проводить более точную идентификацию и количественное определение ГК в корнях солодки по сравнению с традиционно используемым гравиметрическим методом и описанными в литературе методиками ВЭЖХ-анализа.

**Ключевые слова:** ВЭЖХ, глицирризиновая кислота, корень солодки, субкритическая вода, субкритическая экстракция.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2018, vol. 22, no. 3, pp. 229-235

DOI: 10.15826/analitika.2018.22.3.004

## Determination of glycyrrhizic acid in roots of licorice by HPLC method with subcritical dynamic extraction

**\*L.V. Pavlova<sup>1</sup>, I.A. Platonov<sup>1</sup>, V.A. Kurkin<sup>2</sup>, E.A. Novikova<sup>1</sup>, I.N. Kolesnichenko<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Samara University, Moskovskoye sh., 34, Samara, 443086, Russian Federation

<sup>2</sup>Samara State Medical University, ul. Chapaevskaya, 89, Samara, 443099, Russian Federation

\*Corresponding author: Larisa V. Pavlova, E-mail: lora-pavlova@mail.ru

Submitted 22 March 2018, received in revised form 14 July 2018

Glycyrrhizic acid belongs to triterpene saponins and is the target component in obtaining extracts from the licorice root (*Glycyrrhiza glabra*). In the current paper, a technique has been developed for the determination of glycyrrhizic acid (GA) in licorice roots using the method of high-performance liquid chromatography (HPLC) with the preliminary extraction under subcritical conditions. To optimize the conditions for the sample preparation, an assessment was made of the efficiency of HA extraction with water and ammonia solutions at temperatures of 120, 150 and 170 °C and 5 MPa pressure under the dynamic conditions in comparison with the extraction on a water bath with water, solutions of ammonia, acetone, and 3% solution of nitric acid in acetone. It was shown that the maximum extraction of GA under all the extraction modes studied was carried out by the extraction with water at  $t = 150$  °C and a flow rate of 1.7 cm<sup>3</sup>/min, comparable results are obtained by extraction with a 3% solution of

ammonia under the same conditions. For the quantitative analysis, it was proposed to use the HPLC method with gradient elution. It was shown that the application of the developed technique allows for more accurate identification and quantitative determination of GA in licorice roots in comparison with the traditionally used gravimetric method.

**Key words:** glycyrrhizic acid, licorice root, subcritical water, extraction, HPLC.

## ВВЕДЕНИЕ

Глицирризиновая кислота (ГК) является ценной лекарственной субстанцией для производства противовоспалительных, противовирусных, иммуномодулирующих препаратов (фосфоглив, эпиген, коделак бронхо, глицирам и др.), также изучается синергетический эффект ГК с стрептомицином за счет образования супрамолекулярных комплексов [1-5]. В основе противовирусного эффекта лежит способность ГК прерывать реакции синтеза вирусной ДНК на различных этапах этого процесса [3, 4]. Основным источником ГК служит густой экстракт из корней солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L.), который получают с помощью горячей воды с дальнейшим упариванием в вакуум-аппаратах до консистенции вязкой массы, а также экстракцией 3 % раствором азотной кислоты в ацетоне [6, 7]. Содержание ГК в корнях солодки колеблется в широких пределах – от 1 до 24 % мас. [1, 6].

Актуальность представленных исследований обусловлена активным использованием ГК при изготовлении фармпрепаратов, что способствует поиску наиболее эффективных способов ее извлечения из корней солодки голой, а также разработке надежных методов качественного и количественного определения ГК. Этап пробоподготовки, заключающийся в извлечении целевого компонента из матрицы, является одним из основных. Современные методы извлечения ГК, как правило, заключаются в настаивании сырья с горячей водой [6, 7], водными растворами гидроксида натрия [8], водными растворами этанола [9, 10], водными растворами аммиака [11], а также с применением дополнительных методов, повышающих извлечение компонентов – вакуумно-импульсных методов [8], ультразвука [12]. С развитием новых технологий экстракции, для извлечения ГК стали использовать субкритические и критические состояния веществ, таких как вода [13, 14] и углекислый газ, модифицированный 70 % раствором метанола в воде [15]. Обзор литературных источников показал, что до настоящего времени для извлечения ГК не применялся метод динамической субкритической экстракции водой, в связи с этим актуальной задачей является определение оптимальных условий экстракции ГК из корней солодки.

Цель данной работы: определение оптимальных параметров экстракции ГК из корней солодки с помощью субкритической воды в динамическом режиме и дальнейшим анализом полученных экстрактов методом ВЭЖХ. Практическая значимость разработанного способа пробоподготовки с дальнейшим анализом методом ВЭЖХ состоит как в возможности оценки содержания ГК в корнях солодки для контроля качества растительного сырья, так и

применения данного способа извлечения в технологических целях.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для поведения анализа использовали сухие, неочищенные от наружного пробкового слоя корни дикорастущей солодки голой, выращенные в Казахстане. Корни измельчили и просеяли, выделив сырье с размером частиц менее 1 мм. При приготовлении всех экстрактов использовали единое соотношение сырье (г) : растворитель (см<sup>3</sup>) = (3.10 ± 0.05) : 35 (≈ 1 : 11). Выбор экстрагента определялся литературными данными [14].

### Пробоподготовка путем экстракции в субкритических условиях в динамическом режиме

Измельченные корни солодки голой массой 3.10 ± 0.05 г смешивали для предотвращения слеживания с гранулированным карбидом кремния (размер гранул 2×3 мм) в объемном соотношении 1 : 1. Экстракцию проводили при температурах 120, 150 и 170 °С, давлении 5 МПа. В качестве экстрагента использовали дистиллированную воду, 1 и 3 % растворы аммиака. Также варьировали скорость потока экстрагента: 1.2 и 1.7 см<sup>3</sup>/мин. Экстракты отбирали с момента выхода системы на заданную температуру фракциями по 5 см<sup>3</sup>.

### Пробоподготовка путем экстракции на водяной бане в статическом режиме [14]

Навеску корней солодки голой массой 3.10 ± 0.05 г помещали колбу, снабженную обратным холодильником, заливали 35 см<sup>3</sup> экстрагента и кипятили в течение 120 минут. В качестве экстрагента использовали воду, ацетон, 1- и 3 %-й раствор аммиака в воде и 3 %-й раствор азотной кислоты в ацетоне. По окончании процесса кипячения полученный экстракт охлаждали и фильтровали через складчатый фильтр «белая лента» и доводили растворителем до объема 35 см<sup>3</sup>.

В соответствии с различными режимами экстракции ввели краткое обозначение полученных экстрактов (табл. 1).

### Анализ полученных экстрактов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

Количественное определение ГК в полученных экстрактах проводили методом ВЭЖХ на высокоэффективном жидкостном хроматографе «AZURA» со спектрофотометрическим детектором λ = 190 – 700 нм. Разделение проводили с использованием ко-

Таблица 1

Условия получения экстрактов из корней солодки

Table 1

Conditions for obtaining extracts from licorice roots

Экстрагент, условия экстракции	Режим извлечения	Краткое обозначение полученного экстракта
Вода, 120 °С, V = 1.2 см <sup>3</sup> /мин	динамический	ЭВ 120-1.2
Вода, 120 °С, V = 1.7 см <sup>3</sup> /мин	динамический	ЭВ 120-1.7
Вода, 150 °С, V = 1.2 см <sup>3</sup> /мин	динамический	ЭВ 150-1.2
Вода, 150 °С, V = 1.7 см <sup>3</sup> /мин	динамический	ЭВ 150-1.7
Вода, 170 °С, V = 1.2 см <sup>3</sup> /мин	динамический	ЭВ 170-1.2
Вода, 170 °С, V = 1.7 см <sup>3</sup> /мин	динамический	ЭВ 170-1.7
3 % раствор аммиака в воде, 120 °С, V = 1.2 см <sup>3</sup> /мин	динамический	ЭА 120-1.2
3 % раствор аммиака в воде, 150 °С, V = 1.7 см <sup>3</sup> /мин	динамический	ЭА 150-1.7
Вода, 95 °С	статический	ЭВ
Ацетон, 57 °С	статический	ЭАц
1 % раствор аммиака в воде, 95 °С	статический	Э1А
3 % раствор аммиака в воде, 95 °С	статический	Э3А
3 % раствор HNO <sub>3</sub> в ацетоне, 57 °С	статический	ЭАц-к

лонки Phenomenex Luna C18 250 мм × 3 мм × 5 мкм, скорость потока подвижной фазы (ПФ) 0.5 см<sup>3</sup>/мин. Объем вводимой пробы 20 мкл.

В качестве подвижной фазы при изократическом режиме элюирования использовали смесь ацетонитрила, метанола, воды, уксусной кислоты в объемном соотношении 35 : 20 : 44 : 1 при расходе элюента 0.5 см<sup>3</sup>/мин. Детектирование осуществляли на длине волны 256 нм [14].

В рамках подбора оптимальных условий хроматографического разделения изучали следующие линейные градиентные режимы элюирования, где в качестве ПФ использовали ацетонитрил (элюент А), метанол (элюент Б), вода или фосфатный буфер с добавкой 1 % об. ледяной уксусной кислоты: – градиент 1: элюент А 9-59 % (50 минут); элюент Б 3-41 % (50 минут); 1 % уксусной кислоты в воде 89-0 % (50 минут); – градиент 2: элюент А 9-59 % (50 минут); элюент Б 3-41 % (50 минут); 1 % уксусной кислоты в 0.01 М фосфатном буфере 89-0 % (50 минут); – градиент 3: элюент Б 11-80 % (50 минут), 1 % уксусной кислоты в 0.01 М фосфатном буфере 89-20 % (50 минут); – градиент 4: элюент А 11-80 % (50 минут), 1 % уксусной кислоты в 0.01 М фосфатном буфере 89-20 % (50 минут); – градиент 5: элюент А 9-30 % (50 минут); элюент Б 2-50 % (50 минут); 1% уксусной кислоты в 0.01 М фосфатном буфере 89-20 % (50 минут).

Головной 0.1 М фосфатный буферный раствор готовили путем растворения 13.8 г натрия фосфорнокислого однозамещенного (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O) в 900 см<sup>3</sup> бидистиллированной воды, раствор тщательно перемешивали и доводили до 1000 см<sup>3</sup>. 0.01 М фосфатный буферный раствор с pH = 3 готовили путем разбавления 0.1 М фосфатного буферного головного раствора в 10 раз: смесь 100 см<sup>3</sup> 0.1 М

буферного раствора и 1 мл ледяной уксусной кислоты разбавляли водой до 1000 см<sup>3</sup>.

### Обработка данных

При ВЭЖХ анализе содержание ГК в полученных экстрактах определяли методом абсолютной градуировки. Использовали стандартный образец глицирама (**50531** Sigma Aldrich Glycyrrhizic acid ammonium salt from glycyrrhiza root (licorice)). Линейный диапазон определения ГК соответствует концентрациям 0.001 – 1 мг/мл. Градуировочная зависимость площади пика ГК от концентрации выражается уравнением  $y = 622923x + 2.57$ . Коэффициент корреляции ( $r$ ) равен 0.9999. В экспериментах определяли массовую долю веществ, не растворимых в горячей воде, массовую долю ГК, извлечение ГК из растительного сырья (%).

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для поиска оптимальных условий пробоподготовки с помощью экстракции ГК из растительного сырья варьировали температуру процесса, а также скорость потока экстрагента. В качестве экстрагентов для субкритических условий брали только воду и раствор аммиака, поскольку мы преследовали цель уйти от органических растворителей при получении экстракта из корней солодки. Экстракты, полученные в среде субкритической воды, имели коричневую окраску и представляли из себя мутную субстанцию, раствор не становился прозрачным даже при фильтрации через мембранный фильтр с размером пор 0.45 мкм. Это можно объяснить тем, что при субкритических условиях вода приобретает свойства менее полярного растворителя [16], и в ней растворяются вещества, не растворимые при температуре 100 °С и давлении 101.3 кПа. После выхода из экстрактора, получен-

Таблица 2

Содержание ГК и веществ, не растворимых в горячей воде, в полученных экстрактах

Table 2

Content of GA and substances, insoluble in hot water, in the extracts

Условия экстракции	Определение гравиметрическим методом, $\bar{x} \pm \Delta$ , $n = 5$ , $P = 0.95$			Определение методом ВЭЖХ $\bar{x} \pm \Delta$ , $n = 5$ , $P = 0.95$	
	Содержание веществ, не растворимых в горячей воде, % мас.	Содержание ГК в фильтрате экстракта, % мас.	Извлечение ГК относительно сухого растительного сырья, % мас.	Концентрация ГК в экстракте, мг/мл	Содержание ГК в экстракте, % мас.
ЭВ120-1.2	$0.06 \pm 0.005$	$0.8 \pm 0.06$	$8.9 \pm 0.45$	$6.9 \pm 0.22$	$0.7 \pm 0.02$
ЭВ120-1.7	$0.06 \pm 0.005$	$0.5 \pm 0.04$	$6.2 \pm 0.38$	$4.8 \pm 0.13$	$0.5 \pm 0.01$
ЭВ150-1.2	$0.08 \pm 0.006$	$0.7 \pm 0.06$	$8.1 \pm 0.41$	$5.5 \pm 0.18$	$0.6 \pm 0.02$
ЭВ150-1.7	$0.09 \pm 0.006$	$0.9 \pm 0.07$	$10.7 \pm 0.42$	$7.8 \pm 0.25$	$0.8 \pm 0.03$
ЭВ170-1.2	$0.12 \pm 0.007$	$0.3 \pm 0.03$	$3.8 \pm 0.25$	$2.2 \pm 0.09$	$0.2 \pm 0.01$
ЭВ170-1.7	$0.18 \pm 0.008$	$0.2 \pm 0.02$	$2.9 \pm 0.23$	$2.0 \pm 0.10$	$0.2 \pm 0.01$
ЭА120-1.2	$0.10 \pm 0.007$	$0.7 \pm 0.06$	$8.1 \pm 0.40$	$7.1 \pm 0.25$	$0.7 \pm 0.03$
ЭА150-1.7	$0.11 \pm 0.007$	$0.8 \pm 0.06$	$10.4 \pm 0.37$	$7.3 \pm 0.26$	$0.7 \pm 0.03$
ЭВ	$0.01 \pm 0.002$	$0.3 \pm 0.03$	$3.4 \pm 0.22$	$2.8 \pm 0.11$	$0.3 \pm 0.01$
ЭАц	$0.12 \pm 0.006$	$0.4 \pm 0.03$	$5.7 \pm 0.42$	$3.6 \pm 0.17$	$0.4 \pm 0.02$
Э1А	$0.01 \pm 0.001$	$0.3 \pm 0.03$	$3.4 \pm 0.29$	$2.7 \pm 0.14$	$0.3 \pm 0.02$
Э3А	$0.01 \pm 0.001$	$0.4 \pm 0.03$	$4.5 \pm 0.36$	$3.5 \pm 0.15$	$0.4 \pm 0.02$
ЭАц-к	$0.11 \pm 0.006$	$0.5 \pm 0.04$	$6.7 \pm 0.51$	$4.1 \pm 0.19$	$0.4 \pm 0.02$

ные экстракты переходят в стандартные условия (25 °С, 101.3 кПа), а вещества, не растворимые в воде в стандартных условиях, образуют коллоид. Содержание ГК во всех экстрактах определяли двумя способами: гравиметрическим, согласно ГОСТ 22840-77, и методом ВЭЖХ (табл. 2). Максимальное извлечение ГК субкритической водой в динамических условиях происходит при температуре 150 °С и скорости потока экстрагента  $V = 1.7 \text{ см}^3/\text{мин}$ . Сопоставимые результаты получены при экстракции водой при 120 °С,  $V = 1.2 \text{ см}^3/\text{мин}$  и 3 % раствором аммиака при 150 °С,  $V = 1.7 \text{ см}^3/\text{мин}$ . Установлено, что с повышением температуры процесса необходимо увеличивать скорость потока экстрагента для предотвращения термодеструкции. При повышении температуры процесса до 170 °С извлечение ГК понижается, несмотря на варьирование потока экстрагента, за счет термодеструкции целевого продукта. При субкритической экстракции в статических условиях термодеструкция ГК наблюдается уже при температуре 150 °С, вероятно за счет более длительного воздействия повышенной температуры на сырье и экстракт, чем при динамическом процессе экстракции [14]. При экстракции растворами аммиака лучшие результаты показал 3 % раствор. При этом аммиачные экстракты отличались от водных ярко-желто-коричневой окраской, характерной для глицирризината аммония. Данный способ извлечения можно применять, если ГК необходимо переводить в трехаммонийную соль. Оценить эффективность применения субкритической воды для экстракции ГК помогает сравнение с традиционными способами извлечения [14]. Как показали анализы, традици-

онные методы экстракции извлекают почти в 2-3 раза меньше ГК из корней солодки, чем динамическая субкритическая экстракция водой (табл. 2).

Извлечение ГК относительно сухого сырья позволяет сравнить различные методы экстракции, однако нельзя недооценивать факт использования в работах разного исходного сырья, содержание ГК в котором, как уже говорилось выше, может колебаться в широких пределах. Наилучший результат экстракции ГК субкритической водой в статическом режиме составил 13.6 % [13], в другой публикации [14] результат почти в два раза ниже – 7.3 %, в динамическом режиме в нашем эксперименте – 10.7 %, при экстракции этанолом 0.88 % [9], при использовании ультразвука – 3.64 % [12]. Как видно из приведенных данных, вода в субкритическом состоянии лучше извлекает ГК. Недостатком этого способа является только специализированное аппаратное оформление, не всегда доступное в лабораториях.

Содержание ГК в экстрактах, определенное методом ВЭЖХ, оказалось ниже значений, полученных гравиметрическим методом (табл. 2). ВЭЖХ анализ сухих остатков после гравиметрического определения показал, что помимо ГК, сухие остатки содержат и другие вещества, что приводит к завышению результатов количественного определения, кроме того часть ГК может содержаться в виде коллоидных частиц в субкритических экстрактах, которые удалялись центрифугированием при ВЭЖХ анализе.

Динамический способ экстракции позволяет установить момент полного извлечения ГК из корней солодки в данной экстракционной системе. На

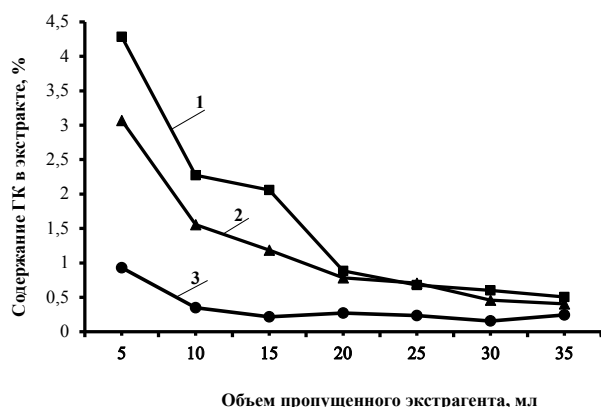


Рис. 1. Динамические кривые извлечения ГК субкритической водой из корней солодки: 1 – при температуре 150 °С и скорости потока 1.7 см<sup>3</sup>/мин; 2 – при температуре 120 °С и скорости потока 1.7 см<sup>3</sup>/мин, 3 – при температуре 170 °С и скорости потока 1.7 см<sup>3</sup>/мин

Fig. 1. Dynamic curves of glycyrrhizic acid extraction by subcritical water from licorice roots: 1 – at a temperature of 150 °C and a flow rate of 1.7 cm<sup>3</sup>/min; 2 – at a temperature of 120 °C and a flow rate of 1.7 cm<sup>3</sup>/min, 3 – at a temperature of 170 °C and a flow rate of 1.7 cm<sup>3</sup>/min

рис. 1 приведены только динамические кривые извлечения ГК при экстракции субкритической водой со скоростью потока 1.7 см<sup>3</sup>/мин. Для всех остальных случаев экстракция происходит аналогичным образом. Анализ отобранных фракций на содержание ГК показал, что основная масса ГК извлекается в начале процесса экстракции в течение 12 минут (20 см<sup>3</sup> экстракта). Следовательно, для повышения содержания ГК в экстракте, можно прекратить процесс экстракции раньше, тогда соотношение сырье (г) : экстрагент (см<sup>3</sup>) будет ≈ 3 : 20 или 1 : 7, как и в работе [14].

Для анализа экстрактов методом ВЭЖХ нами были опробованы различные режимы элюирования: изократический из работ [11, 14] и градиентный, описанные выше. В [14] экстракты солодки перед анализом предварительно очищали на колонке с Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Было отмечено, что это приводит к потерям

целевого компонента, а ВЭЖХ-анализ без очистки давал плохое разрешение пиков. В нашем эксперименте, как и в работе [11], экстракты подвергали центрифугированию, при этом удалялись вещества, находящиеся в субкритических экстрактах в виде коллоидных частиц, следовательно, количество ГК, определенное методом ВЭЖХ относится только к ее содержанию в истинном растворе. Изократический режим элюирования [14] экстрактов давал плохое разрешение пиков, а целевой компонент выходил сильно размытым пиком. К достоинствам данного режима анализа можно отнести только быстроту – время анализа составляло 15 минут. Растительные экстракты характеризуются сложностью состава, поэтому методика ВЭЖХ анализа должна быть применима как для анализа ГК, так и для анализа других компонентов экстрактов корней солодки. До настоящего времени целевым компонентом при ВЭЖХ анализе рассматривали только ГК, поэтому методики разрабатывались без учета разделения пиков остальных компонентов [11, 14]. Поэтому были изучены влияние различных соотношений ацетонитрила, метанола, 1% уксусной кислоты в воде и в 0.01 М фосфатном буферном растворе в ПФ на элюирование компонентов. На 1 и 2 режимах градиентного элюирования наблюдалось плохое разрешение пиков, мало отличающееся от изократического режима. Наиболее удачные результаты были получены при анализе на режиме 5 градиентного элюирования (рис. 2). В указанных условиях пик ГК фиксируется на хроматограмме на 43.5 минутах. Хроматографирование занимает 55 минут. Несмотря на значительную продолжительность, данный режим разделения компонентов универсален и может применяться для идентификации и количественного определения не только ГК, но и других компонентов экстракта солодки голай.

Дополнительно во всех экстрактах анализировали содержание веществ, не растворимых в горячей воде. Данный параметр, согласно ГОСТ 22840-77, является лимитирующим и составляет 2.5 % мас., т.е. превышение этого показателя автоматически делает экстракты негодными для применения фармацевтической и пищевой промышленности. В табл. 2

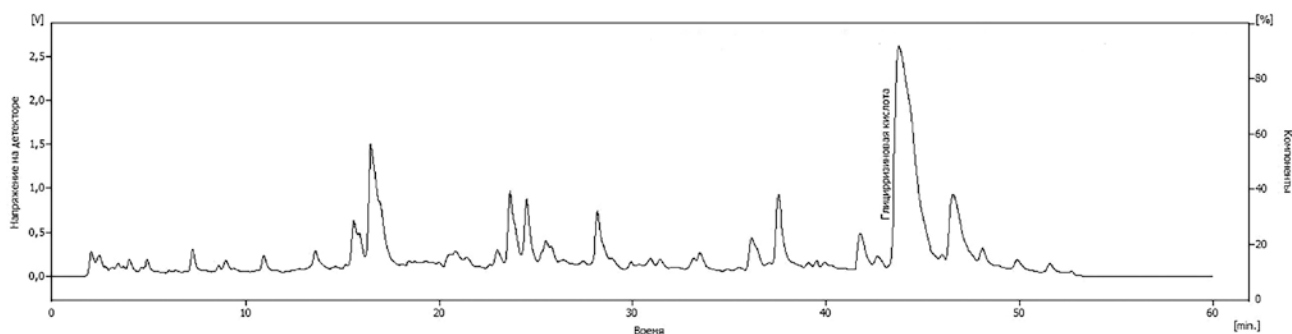


Рис. 2. Хроматограмма, полученная при ВЭЖХ анализе ЭВ 120-1.2 при режиме элюирования 5: элюент А 9-30 % (50 минут); элюент Б 2-50 % (50 минут); 1 % уксусной кислоты в 0.01 М фосфатном буфере 89-20 % (50 минут)

Fig. 2. Chromatogram, obtained by HPLC analysis of water extract 120-1.2 under the elution mode 5: acetonitrile 9-30% (50 min); methanol 2-50% (50 min); 1 % acetic acid in 0.01 M phosphate buffer 89-20% (50 min)

приведены результаты определения в полученных экстрактах массовой доли веществ, не растворимых в горячей воде. Их количество в экстрактах увеличивается с ростом температуры процесса и скорости потока экстрагента. Максимальное извлечение веществ, не растворимых в горячей воде, происходит при экстракции водой при температуре 170 °С и скорости потока экстрагента  $V = 1.7 \text{ см}^3/\text{мин}$ . Это закономерно, так как с повышением температуры процесса экстракции, изменяются свойства экстрагента, повышается растворимость и извлечение веществ, в обычных условиях не растворимых в воде. Полученные значения содержания веществ, не растворимых в горячей воде, не превышают допустимые 2.5 %. Жидкие экстракты корня солодки на производстве подвергают упариванию в целях достижения вязкой консистенции и повышения содержания ГК до 18 % мас. согласно ГОСТ 22840-77, соответственно будет увеличиваться концентрация веществ, не растворимых в горячей воде. Если подвергать концентрированию полученные нами экстракты до содержания ГК 18 %, то массовая доля веществ, не растворимых в горячей воде, не превысит допустимые значения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что для максимального извлечения ГК из корней солодки при проведении пробоподготовки целесообразно использовать динамическую экстракцию субкритической водой при следующих условиях: температура 150 °С, давление 5 МПа, скорость потока экстрагента 1.7 см<sup>3</sup>/мин, соотношение измельченный корень солодки (г) : экстрагент (см<sup>3</sup>) = 1 : 7. Преимущество данного способа пробоподготовки заключается в экспрессности: предлагаемый способ пробоподготовки занимает 30-40 минут, по сравнению с 2 часами при традиционных методах, уход от органических растворителей, а также возможности фиксации полного извлечения ГК из сырья, что очень важно при контроле качества растительного сырья.

Разработан универсальный способ анализа полученных экстрактов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, применимый для качественного и количественного определения всех компонентов экстрактов из корней солодки голой. Подобран градиентный режим элюирования: ацетонитрил 9-30 % (50 минут); метанол 2-50 % (50 минут); 1 % раствор уксусной кислоты в 0.01 М фосфатном буфере 89-20 % (50 минут) при расходе элюента 0.5 см<sup>3</sup>/мин. Детектирование осуществляется при длине волны 256 нм.

## Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках государственного задания на выполнение работ (проект № 4.6875.2017/8.9).

## Acknowledgements

The work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation in the State Assignment for work execution (project 4.6875.2017/8.9).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов) / 2-е изд. перераб. и доп. Самара: ООО «Офорт», ГОУВПО «СамГМУ» Росздравица, 2007. 1239 с.
2. Егоров М.В., Куркин В.А. Совершенствование методов стандартизации корней солодки // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2011. Т. 13, № 1(18). С. 1992-1995.
3. Damle M. Glycyrrhiza glabra (Licorice) - a potent medicinal herb // International Journal of Herbal Medicine. 2014. № 2(2). P. 132-136.
4. Asl M.N., Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of Glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds // Phytother. Res. 2008.V. 22. P. 709-724.
5. Масс-спектрометрия супрамолекулярных комплексов глицирризиновой кислоты и стрептомицина / Е.В. Ветрова и др. // Химия растительного сырья. 2016. № 3. С. 27-34.
6. 100 Chemical Myths: Misconceptions, Misunderstandings, Explanations / L. Kovács [et al.] Springer. 2014. 396 с.
7. Получение глицирризиновой кислоты из солодкового корня / Б.Б. Абжалелов [и др.] // Международный журнал экспериментального образования. 2016. № 5-1. С. 100-104.
8. Рыбальченко А.С., Голицин В.П., Комарова Л.Ф. Исследование экстракции солодкового корня // Химия растительного сырья. 2002. № 4. С. 55-59.
9. Переработка шрота корня солодки. II. Тriterпеноидные и флавоноидные вещества этанольных экстрактов / В.Р. Хабибрахманова [и др.] // Химия растительного сырья. 2016. № 2. С. 97-102.
10. Определение технологических параметров получения жидкого экстракта из солодки голой / Л.Ч. Гагиева [и др.] // Известия Горского государственного аграрного университета. 2011. Ч. 2, Т. 48. С. 266-268.
11. Совершенствование способов оценки качества корней и сиропа солодки / М.В. Гаврилин [и др.] // Химия растительного сырья. 2009. № 4. С. 147-150.
12. Charpe T.W., Rathod V.K. Extraction of glycyrrhizic acid from licorice root using ultrasound: Process intensification studies // Chemical Engineering and Processing: Process Intensification. 2012. V. 54. P. 37-41.
13. Mukhopadhyay M., Panja P. A novel process for extraction of natural sweetener from licorice (Glycyrrhiza glabra) roots // Separ. Purif. Technol. 2008. V. 63. P. 539-545.
14. Экстракция глицирризиновой кислоты из корня солодки в среде субкритической воды / К.С. Тихомирова [и др.] // Сверхкритические флюиды: теория и практика. 2008. № 3. С. 71-74.
15. Effects of Modifiers on the Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction of Glycyrrhizin from Licorice and the Morphology of Licorice Tissue after Extraction / H.-S. Kim [et. al.] // Biotechnology and Bioprocess Engineering 2004, V. 9, № 6. P. 447-453.
16. Uematsu M. Franck E.U. Static Dielectric Constant of Water and Steam // J. Phys. Chem. Ref. Data. 1980. V. 9. № 4. P. 1291-1306.

## REFERENCES

1. Kurkin V.A. *Farmakognosiia* [Pharmacognosy]. Samara, Ofort Publ., 2007. 1239 p. (in Russian).
2. Egorov M.V., Kurkin V.A. [Improvement of methods for standardization of licorice roots]. *Izvestiia Samarskogo nauchno-go tsentra Rossiiskoi akademii nauk* [News of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences], 2011, vol. 13, no. 1 (18), pp. 1992-1995 (in Russian).
3. Damle M. Glycyrrhiza glabra (Liquorice) - a potent medicinal herb. *International Journal of Herbal Medicine*, 2014, vol. 2, no. 2, pp. 132-136.
4. Asl M.N., Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of Glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds. *Phytother. Res.*, 2008, vol. 22, no. 6, pp. 709-724. DOI: 10.1002/ptr.2362.
5. Vetrova E.V., Lekar A.V., Maksimenko E.V., Khizriyeva S.S., Bugaeva A.F., Borisenko N.I. [Mass spectrometry of supramolecular complexes of glycyrrhizic acid and streptomycin]. *Khimiia Rastitel'nogo Syr'ia* [Chemistry of plant raw materials], 2016, no. 3, pp. 27-34. DOI: 10.14258/jcprm.2016031175 (in Russian).
6. Kovács L., Csupor D., Lente G., Gunda T. 100 Chemical Myths: Misconceptions, Misunderstandings, Explanations. Springer Publ., 2014. 396 p. DOI:10.1007/978-3-319-08419-0.
7. Abzhalelov B.B., Kuzhamberdieva S.Zh., Asemov A.B., Mustafa A.T. [Receiving of glycyrrhizic acid from a licorice root]. *International journal of experimental education*, 2016, no. 5, pp. 100-104 (in Russian).
8. Rybalchenko A.S., Golitsin V.P., Komarova L.F. [Study of liquorice root extraction]. *Khimiia Rastitel'nogo Syr'ia* [Chemistry of plant raw materials], 2002, no. 4, pp. 55-59 (in Russian).
9. Habibrakhmanova V.R., Khaled Sh.M., Gabdrakhmanova A.R., Sysoyeva M.A. [Processing of licorice root meal. II. Triterpenoid and flavonoid substances of ethanol extracts]. *Khimiia Rastitel'nogo Syr'ia* [Chemistry of plant raw materials], 2016, no. 2, pp. 97-102. DOI: 10.14258/jcprm.2016021121 (in Russian).
10. Gagieva L.Ch., Vaniev A.G., Gabeev V.N., Tsugkiev B.G., Makiev O.N. [Determination of technological parameters for obtaining liquid extract from licorice naked]. *Izvestiia Gorskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [News of Gorsky State Agrarian University], 2011, vol. 48, no. 2, pp. 266-268 (in Russian).
11. Gavrilin M.V., Senchenko S.P., Tamiryan A.M., Pechenova A.V. [Perfection of ways to assess the quality of roots and licorice syrup]. *Khimiia Rastitel'nogo Syr'ia* [Chemistry of plant raw materials], 2009, no. 4, pp. 147-150 (in Russian).
12. Charpe T.W., Rathod V.K. [Extraction of glycyrrhizic acid from licorice root using ultrasound: Process intensification studies]. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 2012, vol. 54, pp. 37-41. DOI:10.1016/j.cep.2012.01.002.
13. Mukhopadhyay M., Panja P. [A novel process for extraction of natural sweetener from licorice (Glycyrrhiza glabra) roots]. *Separ. Purif. Technol.*, 2008, vol. 63, pp. 539-545.
14. Tikhomirova K.S., Borisenko R.N., Vetrova E.V., Borisenko S.N., Maksimenko E.V., Borisenko N.I., Minkin V.I. [Extraction of glycyrrhizic acid from licorice root in subcritical water]. *Sverkhkriticheskie flyuidy: teoriia i praktika* [Supercritical fluids: theory and practice], 2008, no. 3, pp. 71-74 (in Russian).
15. Hyun-Seok Kim, Sang-Yun Lee, Byung-Yong Kim, Eun-Kyu Lee, Jong-Hoon Ryu, Gio-Bin Lim. Effects of Modifiers on the Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction of Glycyrrhizin from Licorice and the Morphology of Licorice Tissue after Extraction. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2004, vol. 9, no. 6, pp.447-453. DOI:10.1007/bf02933484.
16. Uematsu M., Franck E.U. Static Dielectric Constant of Water and Steam. *J. Phys. Chem. ref. Data*, 1980, vol. 9, no. 4, pp. 1291-1306.